

(Communication reçue le 9 mars 1968.)

OBSERVATIONS PRELIMINAIRES
SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE
DES PIÈCES MANDIBULAIRES
DE QUELQUES ANNELIDES POLYCHETES

par M. DESIÈRE et Ch. JEUNIAUX.

Université de Liège, Institut Ed. Van Beneden,
Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie Animales.

Résumé. — Contrairement aux crochets pharyngiens de *Perinereis cultrifera* (GRUBE) et de *Sthenelais boa* (JOHNSTON), qui sont complètement solubles dans la soude à chaud, les pièces cornées maxillaires de certains Eunicien sont constituées non seulement de protéines mais encore de sels minéraux et de chitine. La quantité de chitine est faible et estimée à 0,13 p.c. seulement du poids sec total.

(English summary at the end of this article.)

I. — INTRODUCTION.

La littérature scientifique n'offre que peu de renseignements en ce qui concerne la constitution chimique des formations maxillaires chez les Annélides Polychètes. Les auteurs admettent généralement, sans preuves expérimentales, que les pièces « mandibulaires » de ces vers sont de nature chitineuse.

Rappelons toutefois, à ce propos, que les zoologistes ont souvent tendance à donner abusivement le nom de « chitine », non à la réalité moléculaire que représente cette substance, mais à toutes les formations cuticulaires ou squelettiques plus ou moins résistantes aux agents chimiques, à la putréfaction, au scalpel de l'anatomiste ou au rasoir du microtome.

Abordant le problème de la répartition de la chitine au niveau des structures squelettiques et cuticulaires des animaux, l'un de nous (JEUNIAUX, 1963, 1965) a montré que, au moins pour une espèce d'Annélide Polychète (*Perinereis cultrifera*), la chitine manque complètement dans la gaine de la trompe, les crochets mandibulaires et les paragnathes.

Il s'avérait donc intéressant d'étendre les recherches à d'autres Annélides Polychètes. Le présent travail fait état de la mise en évidence de chitine, en faible quantité, dans les pièces mandibulaires de certains Euniciens.

II. — MATÉRIEL BIOLOGIQUE.

Les pièces cornées mandibulaires étudiées appartiennent à quatre espèces d'Euniciens : *Marphysa sanguinea* (MONTAGU), *Marphysa bellii* (AUDOUIN et EDWARDS), *Arabella iricolor* (MONTAGU) et *Lumbriconereis impatiens* CLAPARÈDE, ainsi qu'à *Perinereis cultrifera* GRUBE (Néréidien) et à *Sthenelais boa* (JOHNSTON) (Aphroditien).

Les exemplaires étudiés ont été recueillis à la Station Biologique de Roscoff et ont été conservés dans l'alcool 60°.

III. — TECHNIQUES.

Nous avons, au cours d'expériences préliminaires, observé l'action de NaOH 0,5 N à 100° et celle de HCl 0,5 N sur les pièces mandibulaires des diverses espèces citées ci-dessus. La chitine a été recherchée et dosée par la méthode enzymatique de JEUNIAUX (1963, 1965). Celle-ci est basée sur l'utilisation, comme réactif spécifique de la chitine, de solutions de chitinases purifiées qui catalysent spécifiquement l'hydrolyse de la chitine en chitobiose et chitotriose (première étape). Ces deux oligomères de l'acétylglucosamine sont ensuite hydrolysés (deuxième étape) en acétylglucosamine, que l'on dose par la méthode de REISSIG, STROMINGER et LOLOIR (1955).

Les chitinases ont été préparées à partir d'un filtrat de culture de *Streptomyces antibioticus*, souche A1 (JEUNIAUX, 1958), et purifiées par la méthode de JEUNIAUX (1959, 1966). La solution de chitinases purifiées utilisée au cours de cet essai (fraction SA2-50) titrait 400 unités néphélométriques par ml (soit 0,92 mg d'enzyme par ml) (cf. JEUNIAUX, 1966). L'action de l'enzyme sur les pièces mandibulaires étudiées a duré 10 heures à 37° C et à pH 5,2 en présence de thymol comme antiseptique.

La quantité approximative de protéines a été estimée en dosant par Kjeldahl l'azote extrait par la soude à chaud.

IV. — RÉSULTATS.

A) Observations préliminaires.

L'observation du comportement des pièces étudiées dans la soude à chaud (NaOH 0,5 N à 100°) et dans l'acide chlorhydri-

que dilué (HCl 0,5 N à 20°) montre déjà que les propriétés des pièces cornées mandibulaires des Euniciens sont nettement différentes de celles des mâchoires des Annélides Polychètes à trompe exsertile, *Perinereis cultrifera* et *Sthenelais boa*.

Les mâchoires de ces deux dernières espèces sont rapidement et totalement solubilisées par la soude caustique 0,5 N à 100°, alors que les pièces mandibulaires des Euniciens résistent à ce même traitement, quelle qu'en soit la durée.

Dans le cas des pièces cornées mandibulaires de *Marphysa bellii* (Eunicien), on n'observe, au cours du traitement par NaOH 0,5 N à 100°, qu'une décoloration plus ou moins rapide du matériel et l'acquisition de propriétés physiques sensiblement différentes de celles manifestées par les pièces intactes, notamment l'acquisition d'une grande friabilité. Après ce traitement par la soude à chaud, les pièces mandibulaires de *Marphysa bellii*, plongées dans une solution d'HCl 0,5 N à 20°, se décolorent rapidement, et un court dégagement de bulles de gaz (probablement CO₂) est observé, surtout dans le cas des pièces buccales ventrales. Après ce traitement, il subsiste une matrice organique qui conserve plus ou moins la forme initiale de la pièce mandibulaire. Cette mince pellicule organique pourrait être de nature chitineuse. Afin d'en déterminer la nature chimique exacte, nous avons rassemblé, en un lot unique, les pièces cornées mandibulaires des Euniciens que nous possédions, afin d'effectuer un dosage quantitatif de la chitine par la méthode enzymatique.

Nous avons également dosé l'azote protéique extrait par la soude à 100° à partir de ce même lot de pièces mandibulaires.

B) Dosage de la chitine dans les pièces cornées mandibulaires de quatre espèces d'Euniciens.

Le matériel étudié consistait en un lot unique contenant les pièces mandibulaires isolées à partir de 11 exemplaires de *Marphysa bellii*, 11 exemplaires d'*Arabella iricolor*, 29 exemplaires de *Lumbriconereis impatiens* et 1 exemplaire de *Marphysa sanguinea*.

Les pièces mandibulaires ont été soigneusement lavées à l'eau distillée, puis séchées jusqu'à poids constant en étuve à 85°, puis en exsiccateur sur P₂O₅. Le poids sec total était de 7,0 mg. Le matériel séché a été traité par 5 ml de NaOH 0,5 N à 100° pendant 5 heures, puis à 90° pendant 11 heures. Après centrifugation,

gation, la solution surnageante a été utilisée pour le dosage de l'azote extrait (voir ci-dessous), tandis que le culot de centrifugation, après lavage à l'eau distillée, était traité par HCl 0,5 N à 20° (ce qui entraîne un dégagement de CO₂).

Après centrifugation et lavages à l'eau distillée, le matériel résiduel a été broyé au moyen d'un micropilon en verre et soumis au dosage de la chitine par la méthode enzymatique.

Les résultats sont présentés dans le tableau I. Ils montrent l'existence de chitine en faible quantité, dans le matériel organique provenant du lot de pièces cornées mandibulaires de divers Eunicieniens, et résistant à l'action de la soude à chaud. La chitine constitue environ 0,13 % du poids sec initial de ces pièces.

TABLEAU I. — Dosage de la chitine par la méthode enzymatique dans les pièces cornées mandibulaires de 4 espèces d'Eunicieniens.

Matériel étudié	Poids de matériel sec	Acétylglucosamine totale libérée en μg	Quantité de chitine correspondante en μg (1)	Chitine mesurée en % du poids total
Pièces cornées mandibulaires appartenant à 4 espèces d'Eunicieniens	7 mg	9,9	9,12	0,13

(1) La qualité d'acétylglucosamine (AG) totale libérée est multipliée par 0,92 (Rapport du poids moléculaire d'un reste d'AG dans la molécule de chitine à celui de l'AG libre).

C) Dosage de l'azote extrait par la soude à partir de pièces cornées mandibulaires de quatre espèces d'Eunicieniens.

On dose, par Kjeldahl, après minéralisation, l'azote extrait à partir du lot de pièces mandibulaires d'Eunicieniens par une solution (6 ml) de soude caustique 0,5 N (5 heures à 100°, puis 11 heures à 90°).

Les résultats, présentés dans le tableau II, sont exprimés en mg d'azote extrait par la soude. En admettant que tout cet azote provient de protéines, la fraction protéique représenterait donc environ 47 % du poids sec initial des pièces cornées mandibulaires constituant le lot étudié.

TABLEAU II. — Dosage de l'azote extrait par la soude à chaud à partir des pièces cornées mandibulaires de 4 espèces d'Euniciens (KJELDAHL).

Matériel étudié	Poids de matériel sec	N extrait par NaOH 0,5 N à 100°, en mg	« Protéines » extraites par la soude, en mg (1)	« Protéines » en % du poids sec initial
Pièces cornées de 4 espèces d'Euniciens	7 mg	0,525	3,28	46,9

(1) En admettant que tout l'azote extrait par la soude provient de protéines (la quantité d'azote est multipliée par 6,25).

V. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

a) Les mâchoires des Annélides Polychètes à trompe exsertile, *Perinereis cultrifera* et *Sthenelais boa*, ne sont pas constituées de chitine, ce qui confirme l'observation de l'un de nous pour les crochets mandibulaires et les paragnathes de *Perinereis cultrifera* (JEUNIAUX, 1963). En effet, ces structures ne résistent pas à l'action de la soude 0,5N à 100° alors que la chitine est connue pour sa résistance à pareil traitement. Leur dégradation est complète après une demi-heure.

b) Au contraire, les pièces maxillaires de l'organe buccal de quatre espèces d'Euniciens, *Marphysa bellii* et *M. sanguinea*, *Arabella iricolor* et *Lumbriconereis impatiens*, résistent au même traitement par la soude à chaud, quelle qu'en soit la durée. Après ce traitement, les pièces maxillaires, traitées par HCl 0,5 N à 20°, perdent toute trace de coloration en même temps que se produit un léger dégagement de gaz (CO₂ ?), indiquant la présence, au sein de ces structures, d'incrustats minéraux, probablement des carbonates. Il subsiste une matrice organique friable, soluble dans l'acide sulfurique concentré.

c) L'action des chitinases purifiées et le dosage de l'acétylglucosamine libérée montrent que cette matrice organique est, au moins en partie, constituée de chitine. La chitine représente approximativement 0,13 % du poids sec initial.

d) Le traitement par la soude à 100° entraîne la solubilisation ou la destruction d'un matériel azoté. En admettant, ce qui est

vraisemblable, que cet azote est d'origine protéique, la teneur en protéines détruites par la soude à partir des pièces mandibulaires d'Euniciens correspondrait à 46,9 % du poids sec initial.

e) Il convient toutefois de remarquer que, faute d'avoir pu disposer d'un matériel plus abondant, nos recherches se sont limitées à un seul échantillon comprenant les pièces maxillaires de quatre espèces d'Euniciens réunies. Nous ne sommes donc pas en mesure d'affirmer que les pièces maxillaires de chaque espèce possèdent la même constitution chimique.

Quoi qu'il en soit, il reste indéniable que les pièces maxillaires des Euniciens étudiés renferment de la chitine en faible quantité ainsi que, très vraisemblablement, des substances protéiques et des substances minérales, notamment des carbonates. Les pièces maxillaires des Euniciens diffèrent donc profondément, quant à leur constitution chimique, de celles des Annélides Polychètes à trompe pharyngienne exsertile étudiées jusqu'à présent à ce point de vue.

SUMMARY.

Whereas the jaws of the axial proboscis of Perinereis cultrifera and Sthenelais boa (Nereidae and Aphroditidae) are completely destroyed by hot alkali, the two-paired systems of maxillar pieces of certain species of Euniciidae are build up of proteins, mineral salts and chitin. The quantity of chitin is relatively low and amounts approximately 0,13 % of the total dry weight.

BIBLIOGRAPHIE.

- JEUNIAUX, Ch. (1958). — Recherches sur les Chitinases. I. - Dosage néphélométrique et production de chitinase par des Streptomycètes. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 408.
- JEUNIAUX, Ch. (1959). — Recherches sur les chitinases. II. - Purification de la chitinase d'un Streptomycète, et séparation électrophorétique de principes chitinolytiques distincts. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 597.
- JEUNIAUX, Ch. (1963). — *Chitine et chitinolyse, un chapitre de la biologie moléculaire*. Masson, Paris.
- JEUNIAUX, Ch. (1966). — Chitine et phylogénie : application d'une méthode enzymatique de dosage de la chitine. *Bull. Soc. Chimie Biologie*, **47**, 2267.
- JEUNIAUX, Ch. (1966). — Chitinases, in *Methods in Enzymology*. (Edited by S.P. Colowick et N.O. Kaplan), **8**, 644.
- REISSIG, J.L., STROMINGER, J.L. et LELOIR, L.F. (1955). — A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars, *J. Biol. Chem.*, **217**, 959.